



Good Manufacturing Practice (GMP)/ Zelltherapeutika

Institut für Klinische Hämostaseologie & Transfusionsmedizin, Campus Homburg
 Prof. Dr. Hermann Eichler
 Gebäude 1
 Tel. 06841/16-22530
hermann.eichler@uks.eu

AG Klinische Zelltherapie
 Dr. Isabelle Müller
 DRK-Gebäude
 06841/16-41124
isabelle.mueller@uks.eu



Arzneimittelgesetz

▣ Definition Arzneimittel

▣ § 2 Arzneimittelbegriff

(1) Arzneimittel sind Stoffe oder Zubereitungen aus Stoffen,

1. die zur Anwendung im oder am menschlichen oder tierischen Körper bestimmt sind und als Mittel mit Eigenschaften zur Heilung oder Linderung oder zur Verhütung menschlicher oder tierischer Krankheiten oder krankhafter Beschwerden bestimmt sind oder

2. die im oder am menschlichen oder tierischen Körper angewendet oder einem Menschen oder einem Tier verabreicht werden können, um entweder

a) die physiologischen Funktionen durch eine pharmakologische, immunologische oder metabolische Wirkung wiederherzustellen, zu korrigieren oder zu beeinflussen oder

b) eine medizinische Diagnose zu erstellen.

▣ Anforderungen an die Arzneimittel

▣ Herstellung von Arzneimitteln

▣ Zulassung und Registrierung von Fertigarzneimitteln

▣ Abgabe von Arzneimitteln

▣ Schutz des Menschen bei der klinischen Prüfung

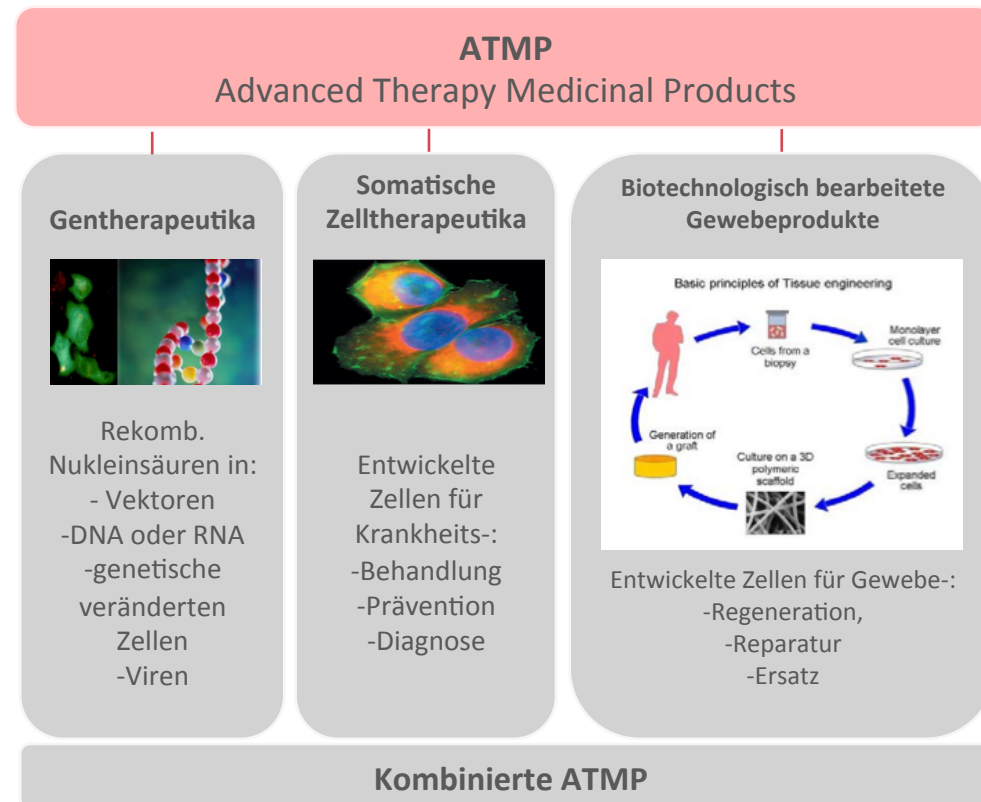
▣ Sicherung und Kontrolle der Qualität

▣ Beobachtung, Sammlung und Auswertung von Arzneimittelrisiken

▣ Überwachung

▣ Haftung für Arzneimittelschäden

Arzneimittel für neuartige Therapien



Gentherapeutikum

Biologisches Arzneimittel zur Anwendung im oder am Menschen mit folgenden Merkmalen:

- enthält einen Wirkstoff, der eine rekombinante Nukleinsäure enthält oder daraus besteht, der im Menschen verwendet oder ihm verabreicht wird, um eine Nukleinsäuresequenz zu regulieren, zu reparieren, zu ersetzen, hinzuzufügen oder zu entfernen.

und

- seine therapeutische, prophylaktische oder diagnostische Wirkung steht in unmittelbarem Zusammenhang mit der rekombinanten Nukleinsäuresequenz, die es enthält, oder mit dem Produkt, das aus der Expression dieser Sequenz resultiert.

Somatisches Zelltherapeutikum

Biologisches Arzneimittel zur Anwendung im oder am Menschen, das folgende Merkmale aufweist:

- besteht aus Zellen oder Gewebe, die substanziell* bearbeitet wurden, so dass biologische Merkmale, physiologische Funktionen oder strukturelle Eigenschaften, die für die beabsichtigte klinische Verwendung relevant sind, verändert wurden.

oder

- besteht aus Zellen oder Gewebe, die im Empfänger im Wesentlichen nicht der(n)selben Funktion(en) dienen sollen wie im Spender, oder es enthält derartige Zellen oder Gewebe. Dieser Bestimmungszweck wird auch „non-homologous use“ genannt.

und

- ihm werden Eigenschaften zur Behandlung, Vorbeugung oder Diagnose von Krankheiten durch pharmakologische, immunologische oder metabolische Wirkungen der enthaltenen Zellen oder Gewebe zugeschrieben und es wird zu diesem Zweck im Menschen verwendet oder ihm verabreicht.

Biotechnologisch bearbeitetes Gewebeprodukt

Biologisches Arzneimittel zur Anwendung im oder am Menschen, das folgende Merkmale aufweist:

- enthält **biotechnologisch bearbeitete** Zellen oder Gewebe oder es besteht aus ihnen.

und

- Ihm werden Eigenschaften zur **Regeneration, Wiederherstellung** oder zum **Ersatz** menschlichen Gewebes zugeschrieben.
- Zellen oder Gewebe gelten als **biotechnologisch bearbeitet**, wenn sie wenigstens eine der folgenden Bedingungen erfüllen:
- Die Zellen oder Gewebe wurden **substanziell*** bearbeitet, so dass biologische Merkmale, physiologische Funktionen oder strukturelle Eigenschaften, die für die beabsichtigte Regeneration, Wiederherstellung oder den Ersatz relevant sind, erzielt werden.

oder

- Die Zellen oder Gewebe sind nicht dazu bestimmt, im Empfänger im Wesentlichen dieselbe(n) Funktion(en) auszuüben wie im Spender (**non-homologous use**).
- **Keine biotechnologisch bearbeiteten Produkte** sind Produkte, die **ausschließlich nicht lebensfähige** menschliche oder tierische Zellen und/oder Gewebe enthalten oder aus solchen bestehen und die **nicht hauptsächlich pharmakologisch, immunologisch oder metabolisch** wirken.

Kombinierte ATMP

Als „kombiniertes Arzneimittel für neuartige Therapien“ gilt ein ATMP, das folgende Voraussetzungen erfüllt:

- Es enthält als **festen Bestandteil** eines oder mehrere **Medizinprodukte** im Sinne des Artikels 1 Absatz 2 Buchstabe a der Richtlinie 93/42/EWG oder eines oder mehrere aktive implantierbare medizinische Geräte im Sinne des Artikels 1 Absatz 2 Buchstabe c der Richtlinie 90/385/EWG.

und

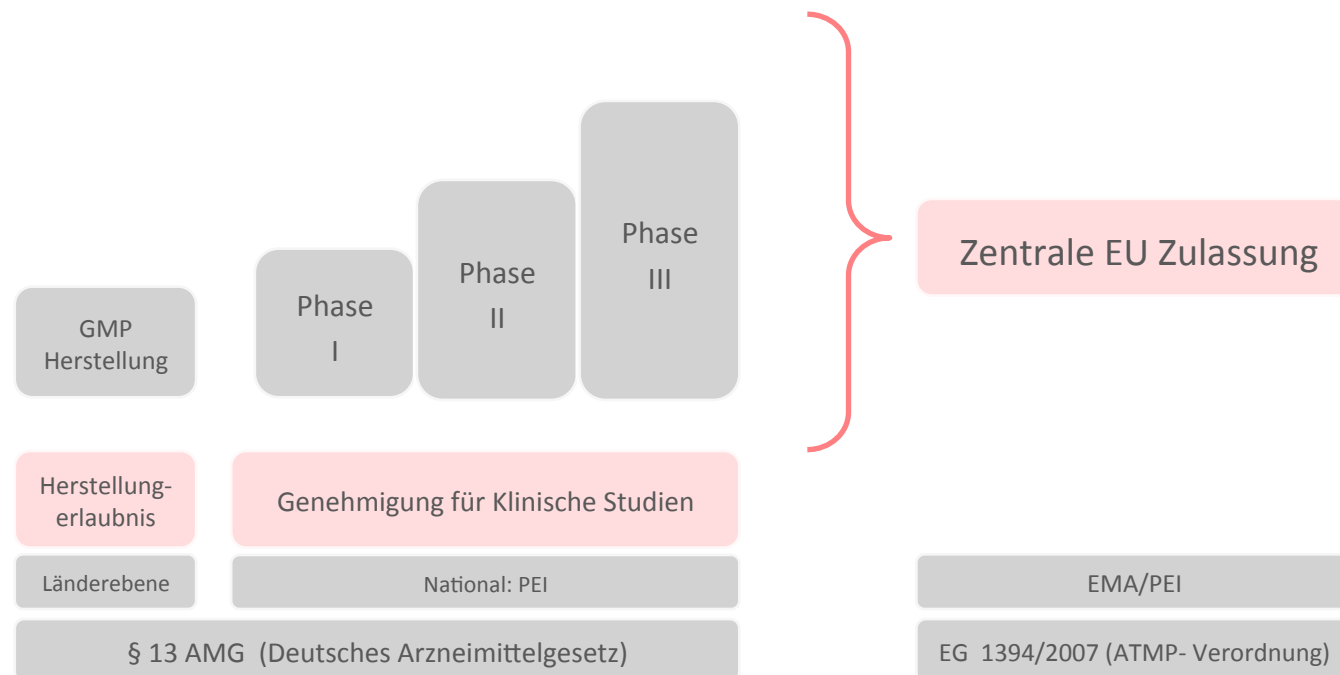
- Sein **Zell- oder Gewebeanteil** muss **lebensfähige Zellen oder Gewebe enthalten**.

oder

- Sein **Zell- oder Gewebeanteil**, der nicht lebensfähige Zellen oder Gewebe enthält, muss auf eine Weise auf den menschlichen Körper einwirken können, die im Vergleich zu den genannten Produkten und Geräten als **Hauptwirkungsweise** betrachtet werden kann.

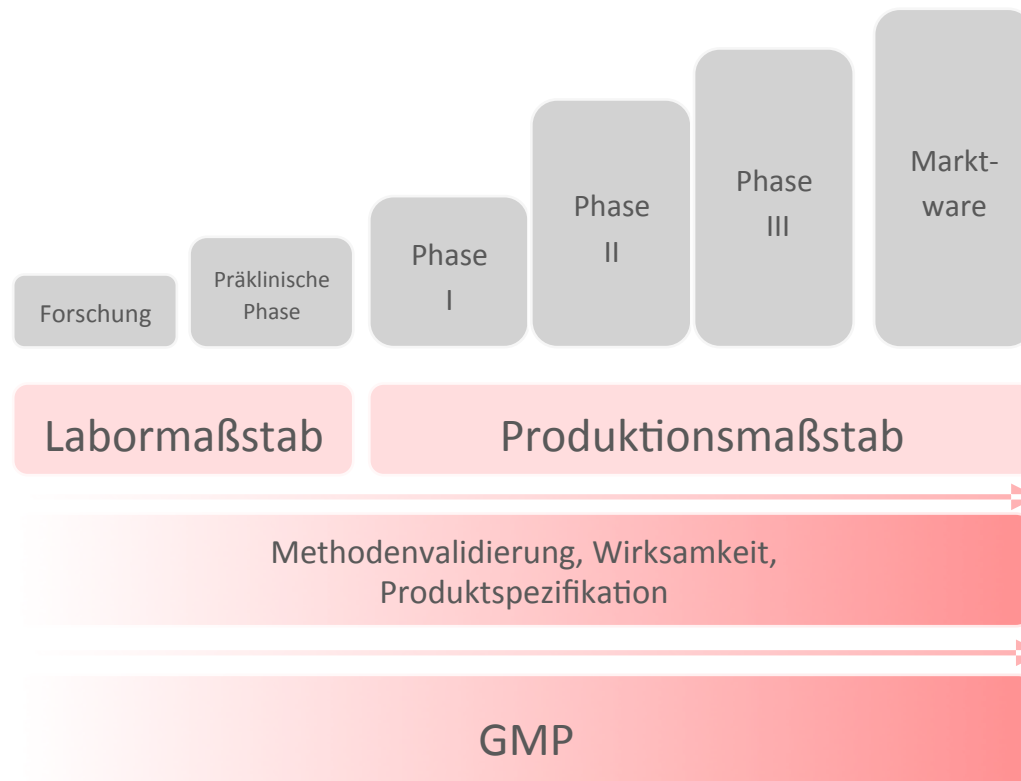
Regulatorische Anforderungen nehmen mit Entwicklungsstufe zu

- Regulierung findet auf EU-Ebene statt; EU-Richtlinien sind im AMG umgesetzt



- Unterschiedliche** Stufen der Produktentwicklung fordern **unterschiedliche** Dossiers zur Bewertung durch **unterschiedliche** Behörden!

Arzneimittel von Forschung zur Zulassung

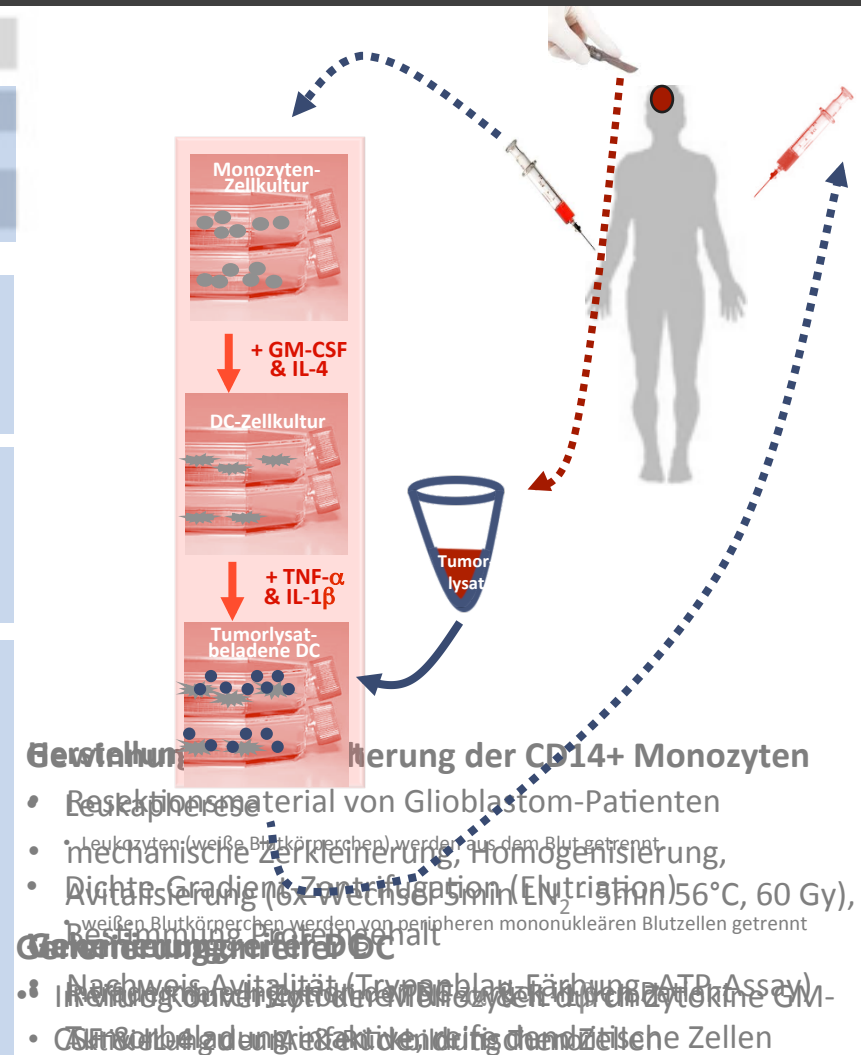
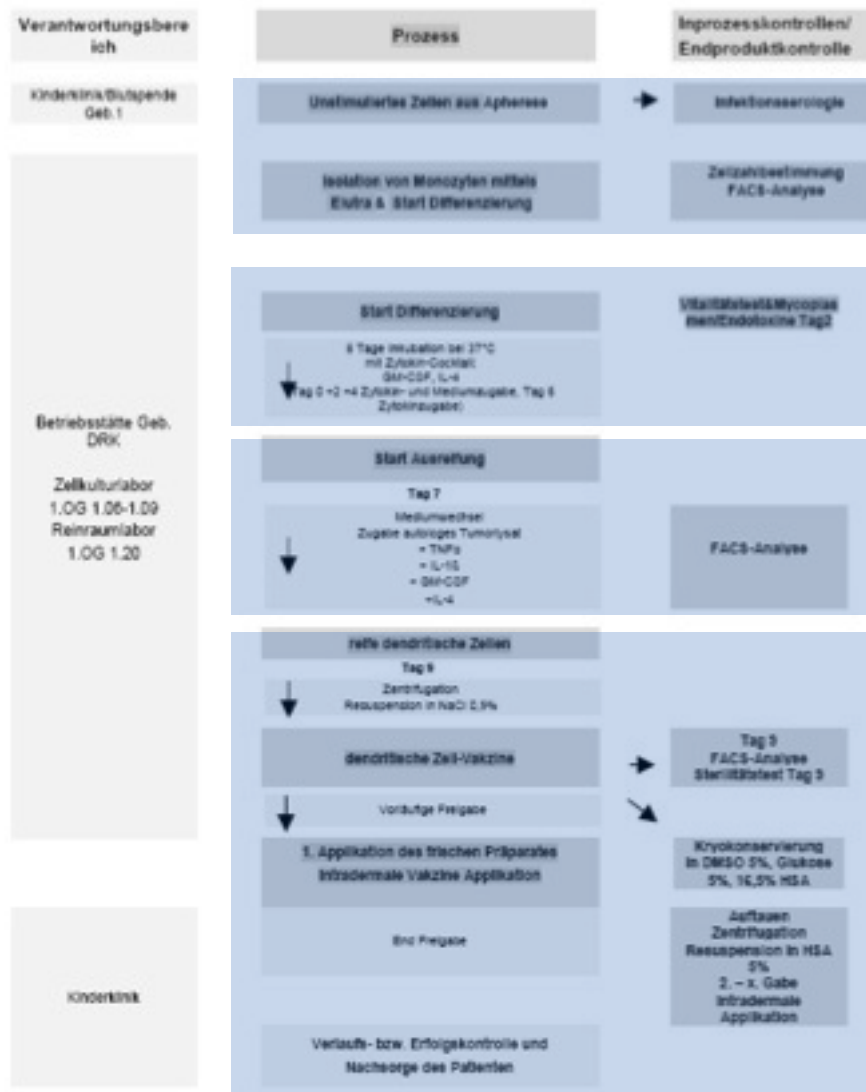


Ethikkommission

- ▣ Beurteilt, ob Vorhaben anhand der Normen, die durch Gesetze oder Richtlinien vorgegeben sind, ethisch vertretbar ist.
- ▣ Projekt muss hohe wissenschaftliche Qualität aufweisen.
- ▣ Einverständniserklärung: Jeder Studienteilnehmer muss sein freies, informiertes Einverständnis geben.
- ▣ Risikominimierung

Somatische Zelltherapeutika - ATMP

Herstellung von autologe DC für die Immuntherapie - Experimenteller Aufbau



GMP

- ▣ **Good Manufacturing Practice** = Gute Herstellungspraxis
- ▣ Umsetzung von Gesetzen und pharmazeutischen Regelwerken in die Produktionspraxis
- ▣ GMP ist eine Verordnung zur **Qualitätssicherung** bei der Herstellung von Arzneimitteln

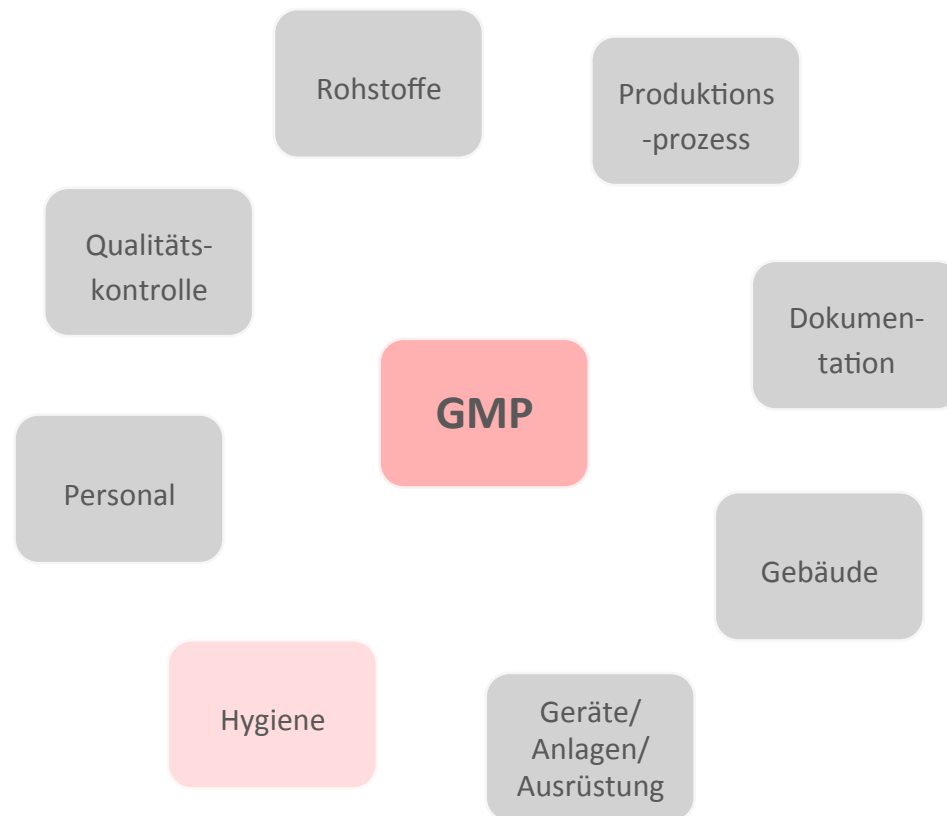
- ▣ Was ist Qualität?
 - ▣ Reproduzierbarkeit
 - ▣ Eignung für einen vorgesehenen Zweck
 - ▣ Jede Charge innerhalb festgelegter Grenzen gleich
 - ▣ Qualität entsteht durch die Summe aller Tätigkeiten in einem Prozess
 - ▣ Kontrollierte und nachvollziehbare Abläufe

Praxisbeispiel „GMP“: Kuchenbacken

Qualitätsrelevante Parameter	Alltag	GMP
Rohstoffe	Eier, Zucker, Mehl etc. im Laden kaufen	<input type="checkbox"/> Rohstoffspezifikation erstellen <input type="checkbox"/> Rohstoffe gegen Spezifikation prüfen und freigeben
Ausrüstung und Geräte	Backofen mit Ober- und Unterhitze	Qualifizierter Backofen: <input type="checkbox"/> Thermostat kalibrieren <input type="checkbox"/> Temperaturverteilung mit Sensoren prüfen <input type="checkbox"/> Gerät für Zweck freigeben
Teigherstellung	Rezept kann nach Belieben variiert werden	<input type="checkbox"/> festgelegte Herstellungsvorschrift <input type="checkbox"/> jeder Schritt wird dokumentiert und quittiert
Backen	ca. 60 min bei 160°C	<input type="checkbox"/> Festlegung Temperatur-Bereich ($160 \pm 2^\circ\text{C}$) <input type="checkbox"/> kontinuierliche Temperatur-Überwachung <input type="checkbox"/> Dokumentation des Temperatur-Verlaufs
Abkühlen	Auf dem Küchentisch	<input type="checkbox"/> definierte Raumbedingungen (Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Keime)

- Was unterscheidet den Kuchen vom Arzneimittel?**
 Beim Arzneimittel gefährden Abweichungen unmittelbar die Qualität des Produkts und damit Sicherheit des Patienten!

Verschiedene Aspekte von GMP



Hygiene

- ▣ Hygieia verkörperte im antiken Griechenland die Präventivmedizin
- ▣ Lehre von der Erhaltung der Gesundheit und der vorbeugenden Verhütung von Krankheiten
- ▣ Hygiene dient dem **Schutz des Produktes vor Kontaminationen** mit Mikroorganismen oder Partikeln
- ▣ Besondere Bedeutung in der Biotechnologie
fertiges Endprodukt ist in der Regel nicht sterilisierbar
→ Anwendung oft parenteral (Injektion in Blutkreislauf)
- ▣ Personalhygiene
- ▣ Betriebshygiene:
 - ▣ Herstellung pharmazeutischer Produkte erfolgt in der Regel in Reinräumen
 - ▣ Reinräume unterliegen einem festgelegten Hygieneprogramm

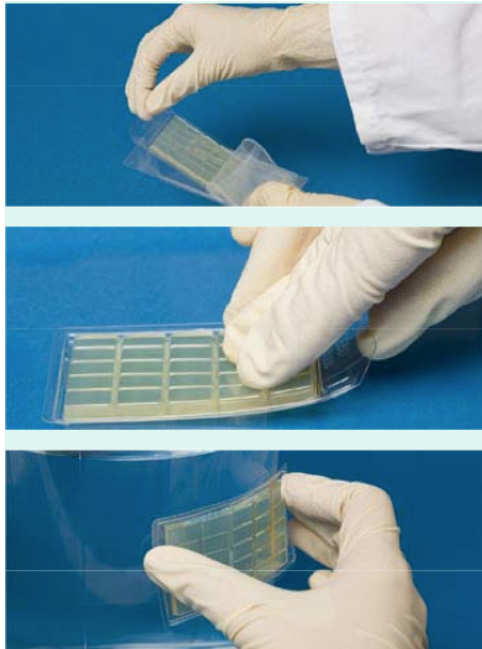
Mögliche Kontaminationsquellen



Reinraum-Anlage: Prinzipieller Aufbau

- ❑ Definierte Luftzufuhr über Hochleistungsfilter (Staubpartikel tragen Bakterien)
- ❑ Überdruck zur Umgebung (+ 15 Pa pro Reinraumklasse)
- ❑ Reinraumklassen D - A
- ❑ Reinraumgerechte Konstruktion:
 - ❑ Glatte Oberflächen
 - ❑ Wände und Decken komplett verfugt
 - ❑ Spezielle Fussböden
 - ❑ Keine Öffnungen (z. B. Bodenabflüsse)
 - ❑ Geschlossene Fenstersysteme
- ❑ Bauliche und organisatorische Maßnahmen (z.B. Personal-, Materialschleusen)

Überwachung der Reinraum-Anlage: Reinraum-Monitoring



- ▣ Messung der Partikelzahl in der Luft mit Laser-Partikel-Counter
- ▣ Messung der Luftkeimzahl
 - ▣ Luftkeimsammler (Aufschleudern von Luft auf festen Nährboden)
 - ▣ Sedimentationsplatten
- ▣ Messung der Oberflächenkeimzahl mit Kontaktplatten

Anforderungen der Reinraum-Klassen: Keimbelastung (EU-GMP-Leitfaden)

Klasse	Luftprobe KBE/m ³	Petrischalen (Durchm. 90mm) Abdruck KBE/4Std	Kontaktplatten (Durchm. 55mm) KBE/Platte	Handschuh-Abdruck 5 Finger KBE/Handschuh
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

▣ **Keimverbreiter Nr. 1 im Reinraum ist der Mensch**

Ein gesunder Mensch gibt pro Tag ca. 29 Mio. Keime in seine Umgebung ab

Anforderungen der Reinraumklassen: Partikelbelastung (EU-GMP-Leitfaden)

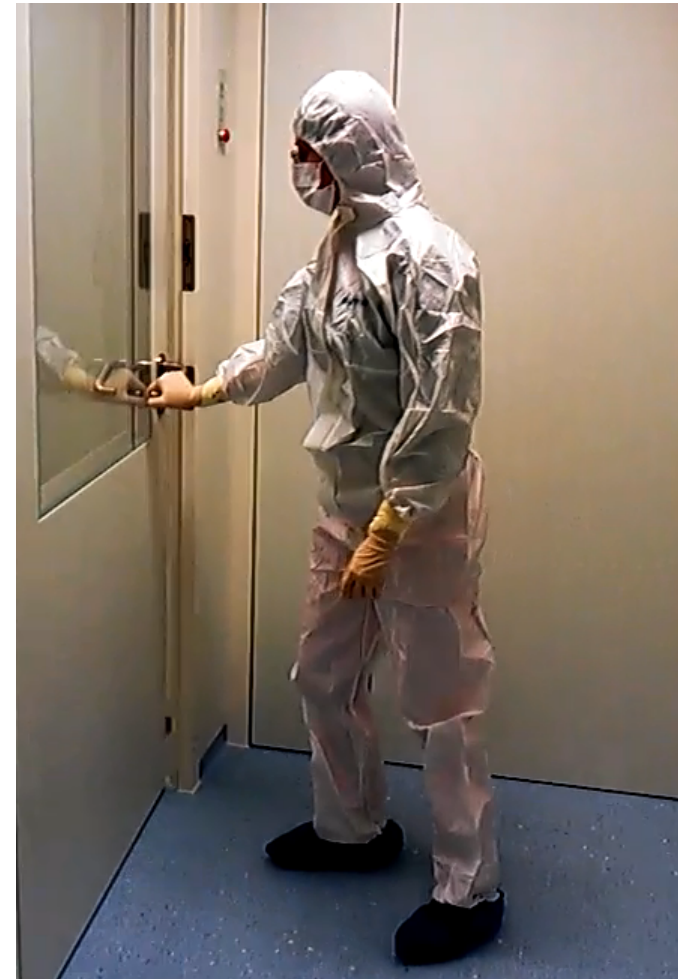
Klasse	at rest		in operation	
	Partikel $\geq 0,5 \mu\text{m}$ pro m^3	Partikel $\geq 5 \mu\text{m}$ pro m^3	Partikel $\geq 0,5 \mu\text{m}$ pro m^3	Partikel $\geq 5 \mu\text{m}$ pro m^3
A	3250	20	3250	20
B	3250	29	325 000	2 900
C	325 000	2 900	3 250 000	29 000
D	3 250 000	29 000	nicht festgelegt	nicht festgelegt

Zum Vergleich:

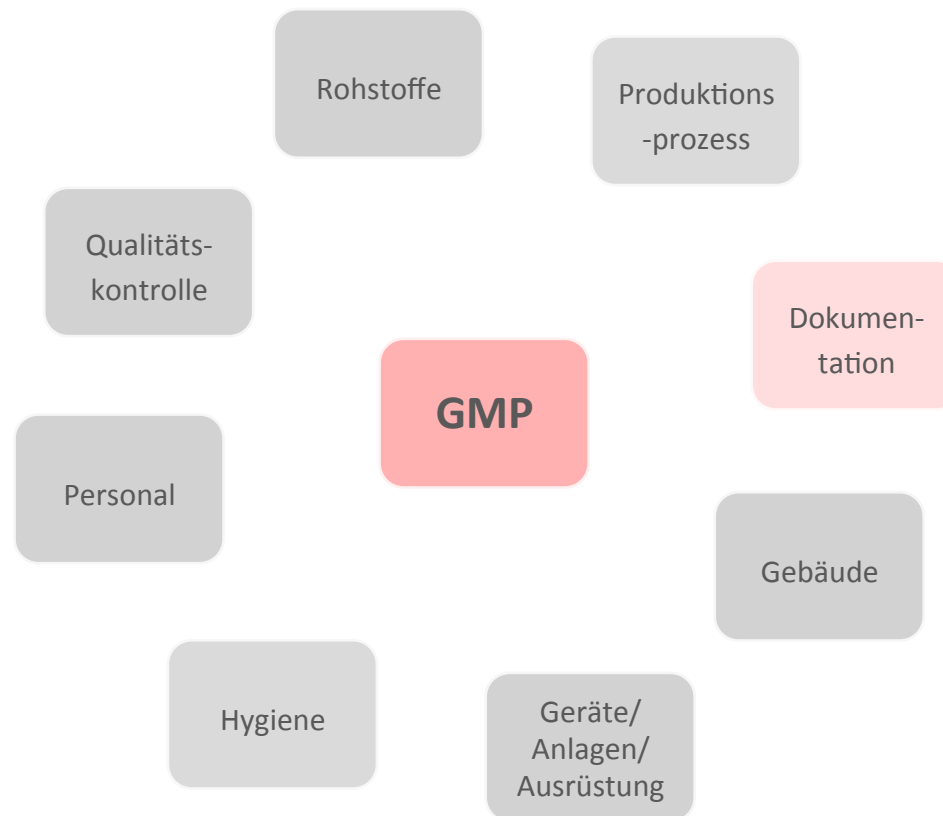
- ▣ Stadtluft enthält ca. 500 – 1000 Mio. Partikel $\geq 0,5 \mu\text{m}$ pro m^3
- ▣ Bergluft (2000 m Höhe) enthält bis 30 Mio. Partikel $\geq 0,5 \mu\text{m}$ pro m^3

Personalhygiene: Reinraumkleidung

- ❑ Besteht aus „partikelarmem“ Gewebe
- ❑ Schützt das Produkt vor Kontamination
- ❑ Besteht entsprechend der Reinraumklassifizierung aus – Overall oder zweiteiliger Reinraumanzug
 - ❑ Reinraumschuhe
 - ❑ Kopfbedeckung
 - ❑ Mundschutz
 - ❑ Handschuhe
- ❑ Betreten des Reinraumes durch Personalschleusen: genaue Vorschriften



Verschiedene Aspekte von GMP



Dokumentation

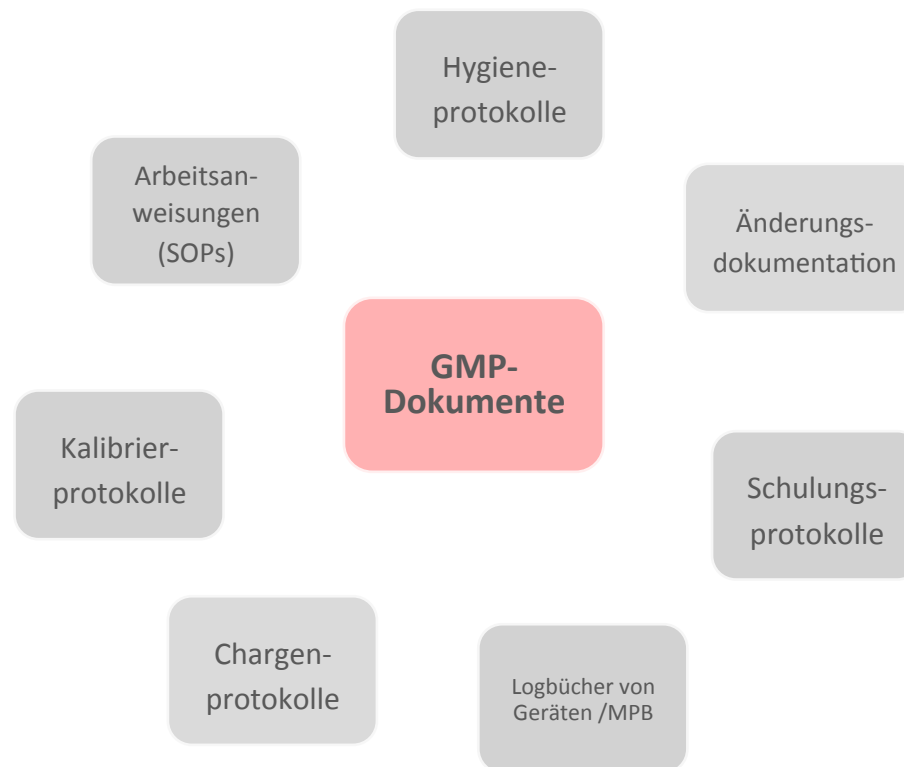
- ▣ Good Manufacturing Practice = Give me More Paper
- ▣ Ziele der Dokumentation:
 - ▣ Komplette Rückverfolgbarkeit
 - ▣ Vollständige Nachvollziehbarkeit

Was nicht dokumentiert ist, wurde nicht durchgeführt!

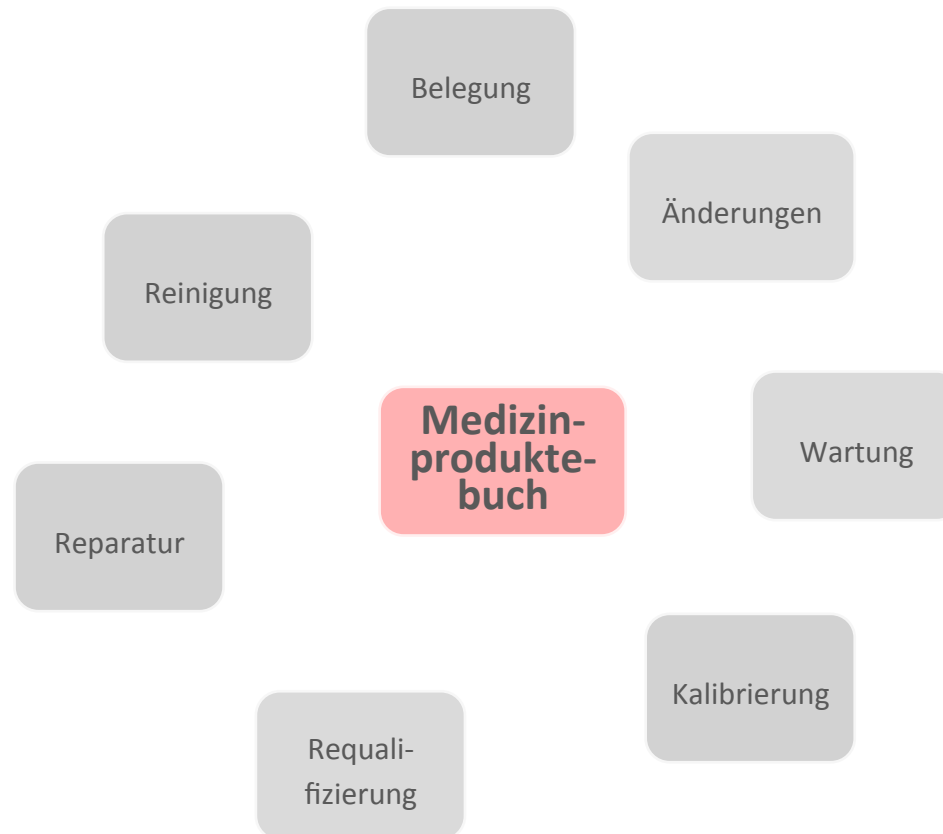
Warum muss dokumentiert werden?

- ❑ Nachvollziehbarkeit der Daten bei eventuellen Problemen mit der Arzneimittelcharge (wer hat wann was und wie gemacht?)
- ❑ Vermeidung von Fehlern durch **eindeutige Festlegung** der Abläufe (z. B. Herstellungsanweisung)
- ❑ Reproduzierbare Steuerung von Prozessen (z. B. Wiegen, Sterilisieren etc.)
- ❑ Bestätigung der Übernahme der Verantwortlichkeit durch Unterschriften

Dokumentationsarten im GMP-Betrieb

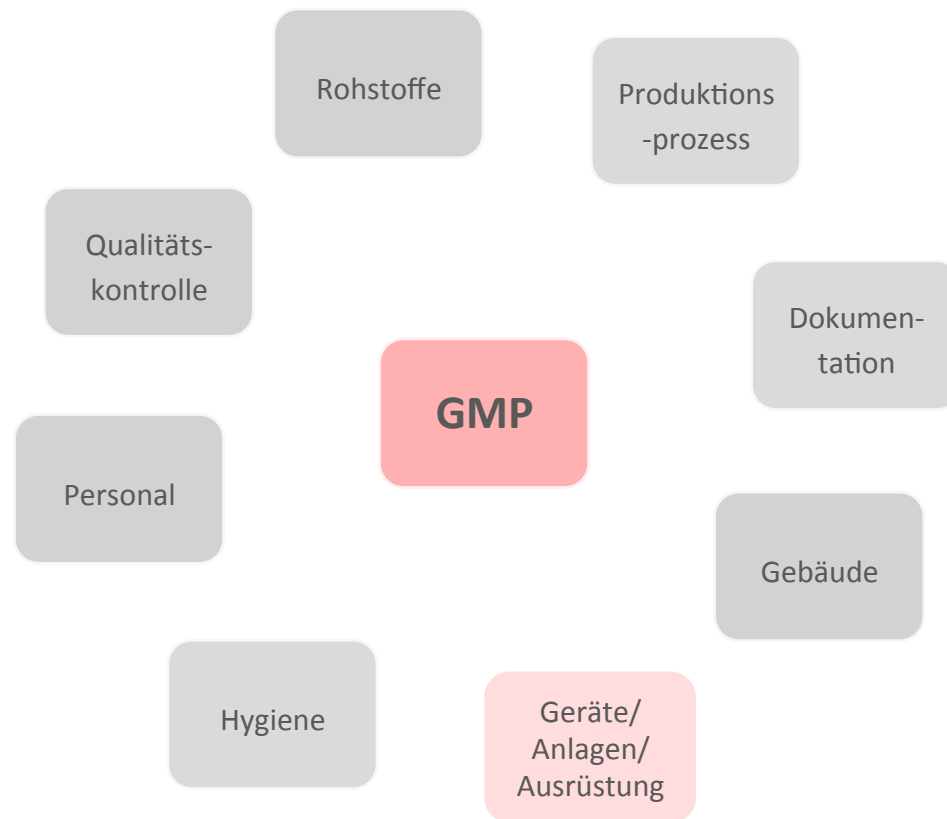


Medizinproduktebuch - Logbuch



- ❑ jede Eintragung von einem Verantwortlichen visiert (abgezeichnet)
- ❑ **Macht den „Lebenslauf“ eines Gerätes nachvollziehbar**

Verschiedene Aspekte von GMP



Qualifizierung und Validierung

Qualifizierung

- ▣ Dokumentierter Nachweis, dass Ausrüstungsgegenstände (Anlagen, Geräte, Räume etc.) für den vorgesehenen Zweck geeignet sind, einwandfrei arbeiten und zu den erwarteten Ergebnissen führen
- ▣ **Qualifizierung ist ausrüstungsbezogen !**

Validierung

- ▣ Dokumentierter Nachweis, dass Prozesse (z. B. DC-Herstellung)innerhalb festgelegter Grenzen zu den erwarteten Ergebnissen führen
- ▣ **Validierung ist prozessbezogen !**

Grundlagen der Qualifizierung

Ziele der Qualifizierungstätigkeiten

- ▣ Sicherstellen, dass das Gerät / die Anlage ein geeignetes Design für den Einsatz im GMP-Umfeld besitzt
- ▣ Überprüfung, ob die Installation korrekt und gemäß der Planung erfolgt ist
- ▣ Überprüfung der Funktionalität
Frühzeitiges Erkennen von Mängeln oder Abweichungen

Ablauf der Qualifizierung

- | | |
|-------------------------------|---------------------------|
| ▣ Designqualifizierung | DQ (Design Qualification) |
| ▣ Installationsqualifizierung | IQ (Installation Qualif.) |
| ▣ Funktionsqualifizierung | OQ (Operational Qualif.) |
| ▣ Leistungsqualifizierung | PQ (Performance Qualif.) |

Aufbau eines einzelnen Qualifizierungstests

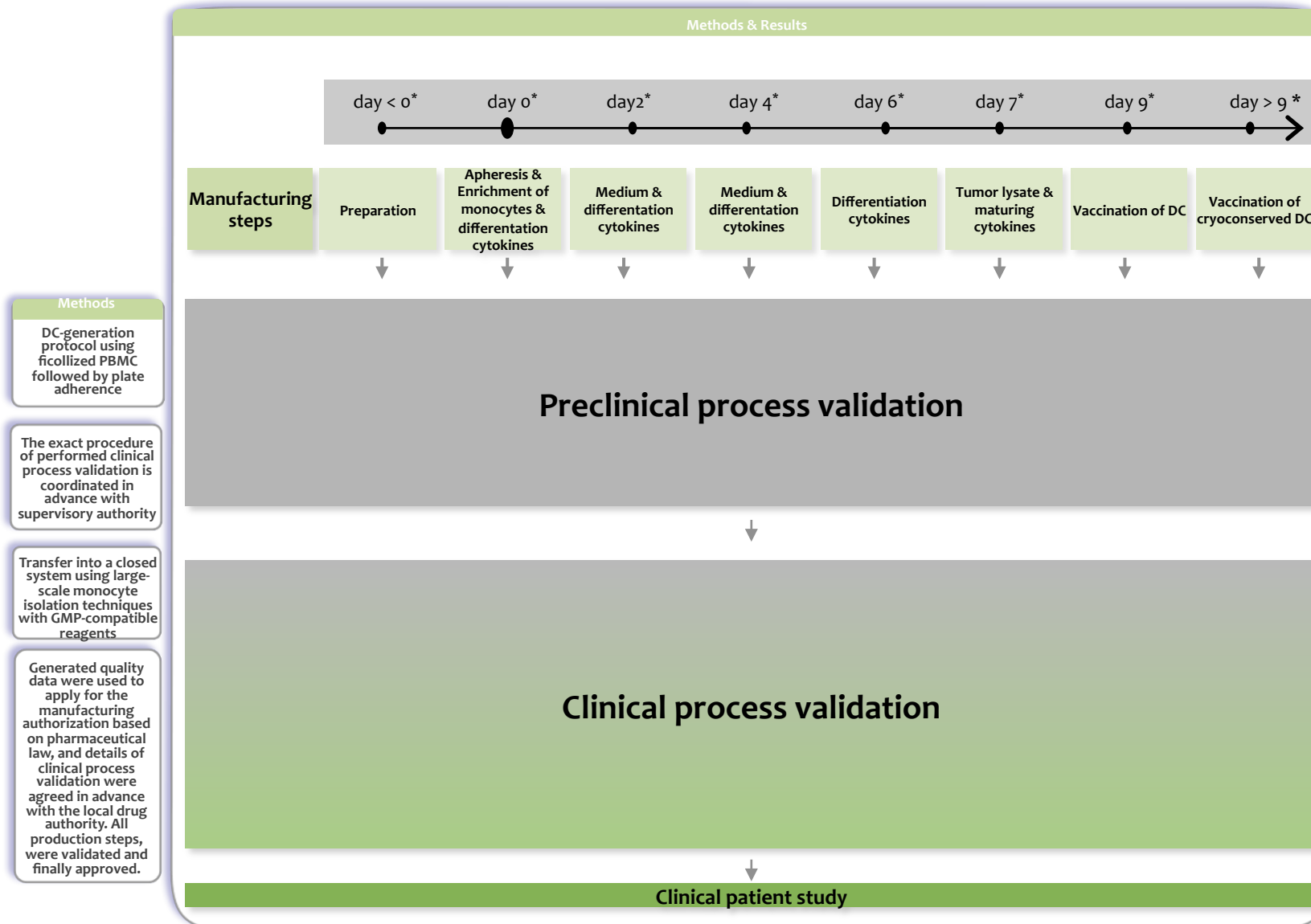
- ❑ **Testziel:** Was soll getestet werden?
- ❑ **Testbeschreibung:** Wie soll der Test durchgeführt werden?
- ❑ **Akzeptanzkriterien** Eindeutige Festlegung
(nicht: „Ergebnisse entsprechen den Erwartungen“)
- ❑ **Resultate:** Dokumentation der Testergebnisse + **Wer** hat **wann was** gemacht?
- ❑ **Testbeurteilung:** Test **insgesamt** erfüllt?

Grundlagen der Validierung

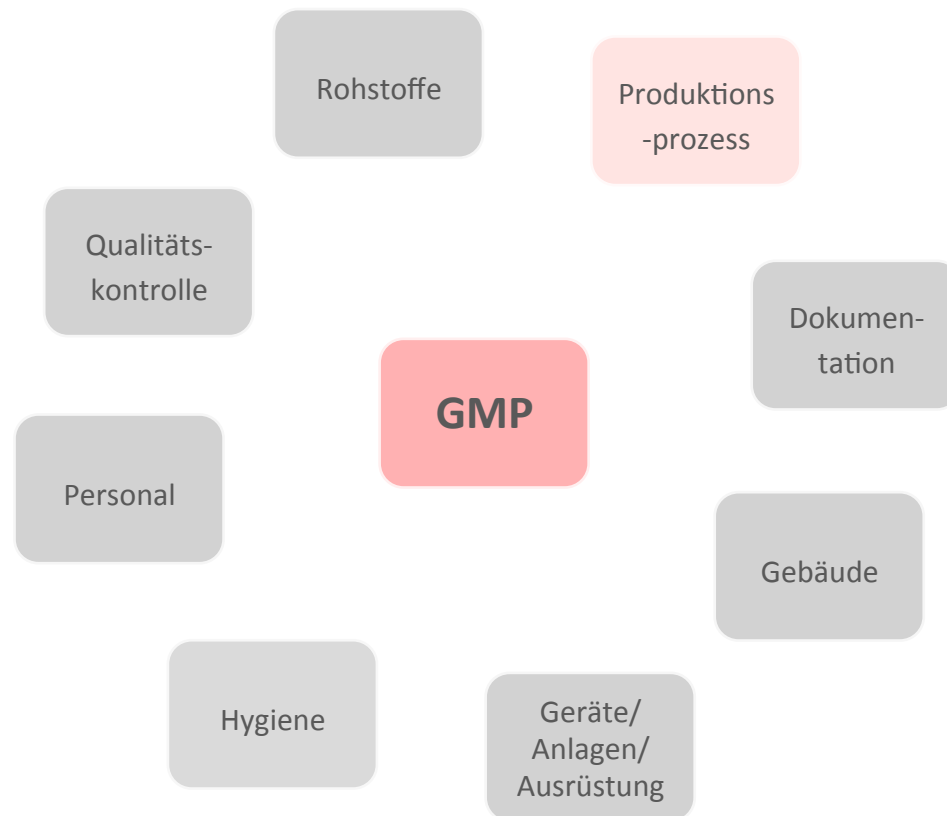
- ❑ Validierung erfolgt vor Markteinführung des Arzneimittels
 - ❑ Teil der Zulassungsdokumentation
- ❑ Dokumentierter Nachweis, dass der Herstellungsprozess innerhalb festgelegter Grenzen reproduzierbar zum erwarteten Ergebnis führt
- ❑ Z.B. drei Validierungschargen mit erhöhtem Kontrollaufwand
- ❑ Ermittlung von Art und Umfang der Kontrollpunkte durch eine Risikoanalyse
- ❑ Beispiele
 - ❑ Herstellungsprozesse
 - ❑ Sterilabfüllung von Produktlösung
 - ❑ Analysenmethoden/ Assays
 - ❑ Reinigung von Geräten
 - ❑ Kühltransport temperaturempfindlicher Substanzen

Development of a GMP-compliant production process for autologous, tumor-lysate pulsed dendritic cells (ATMP)

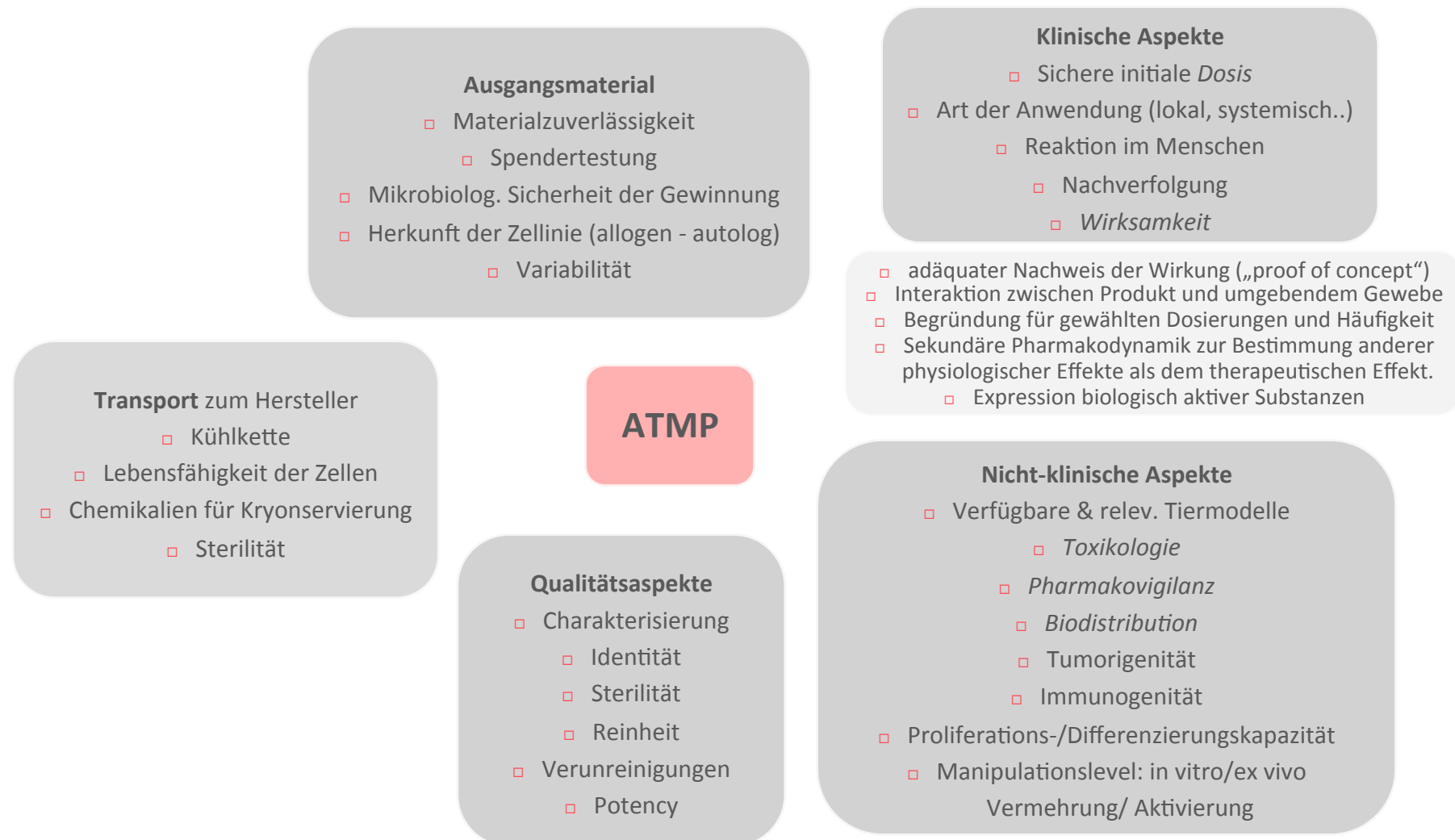
A prerequisite for the processing of clinically applicable cell based medicinal products is a fine-grained GMP validation protocol



Verschiedene Aspekte von GMP



Wissenschaftliche Herausforderungen



Grundsätze zum Design eines Produktionsprozesses

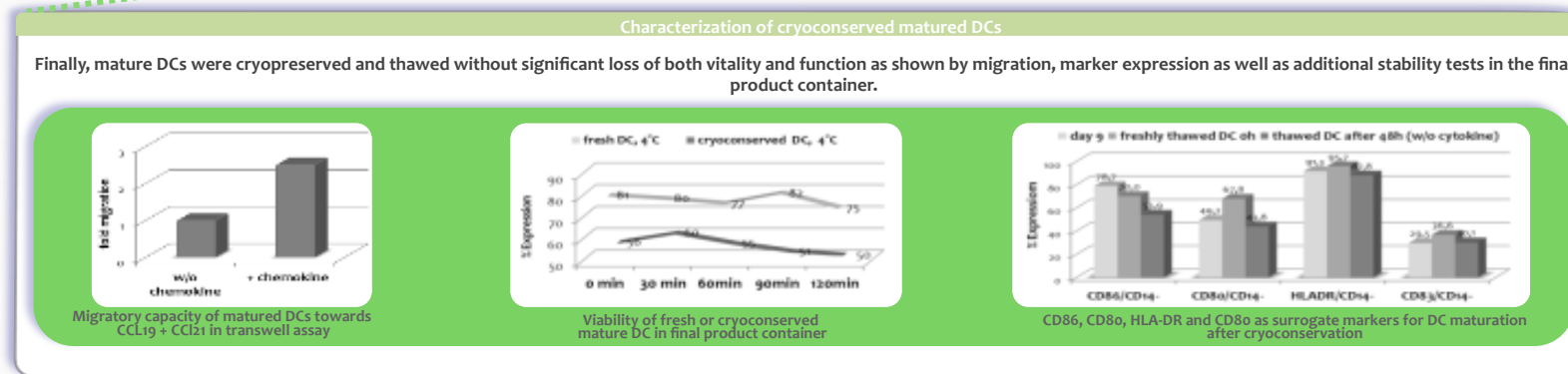
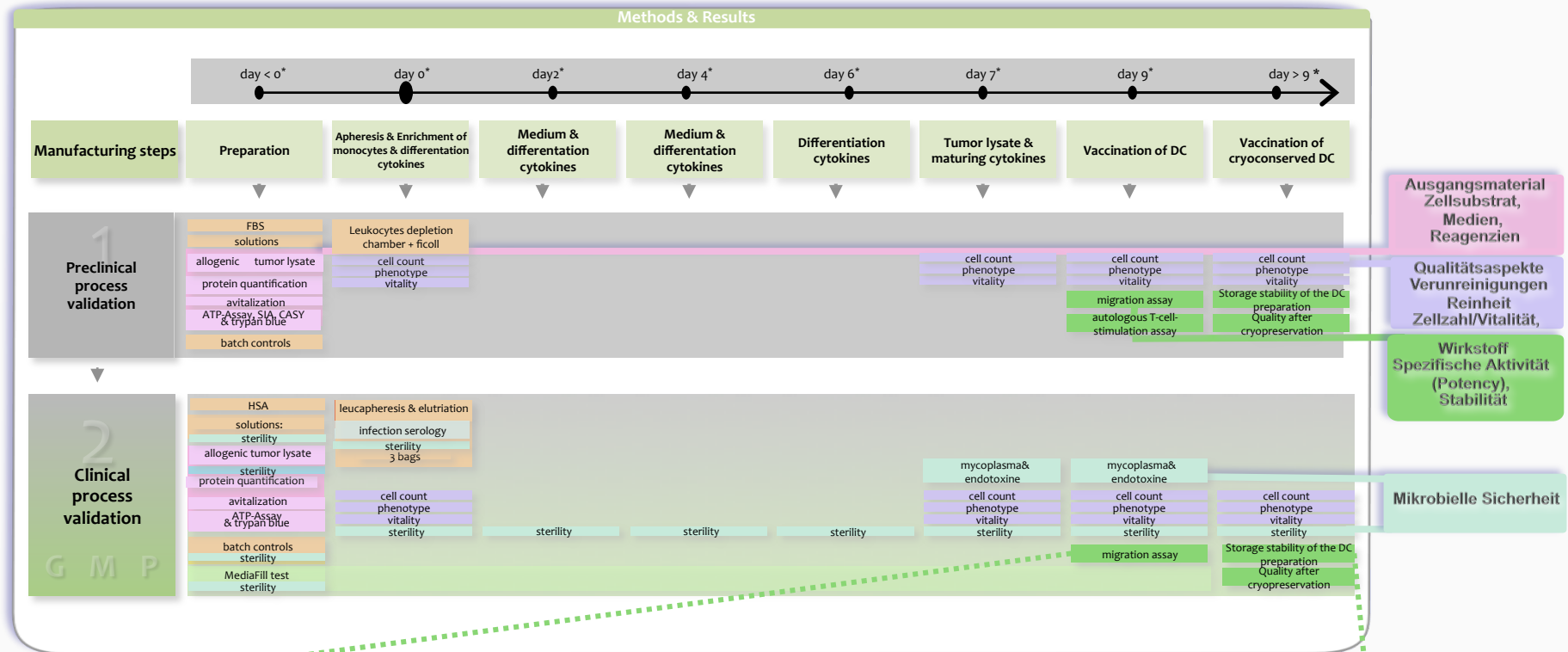
Schon bei der Entwicklung im Labormaßstab beachten:

- ▣ Auswahl der Rohstoffe (Herkunft, Preis, TSE-Risiko)
- ▣ Prozess muss Scale-up-fähig sein (z. B. kein Wachstum auf festen Kulturmedien)
- ▣ Möglichst einfache Prozesse
- ▣ Robuste Prozesse
- ▣ Kühlbedingungen vermeiden
- ▣ Keine Antibiotika im Fermentationsmedium

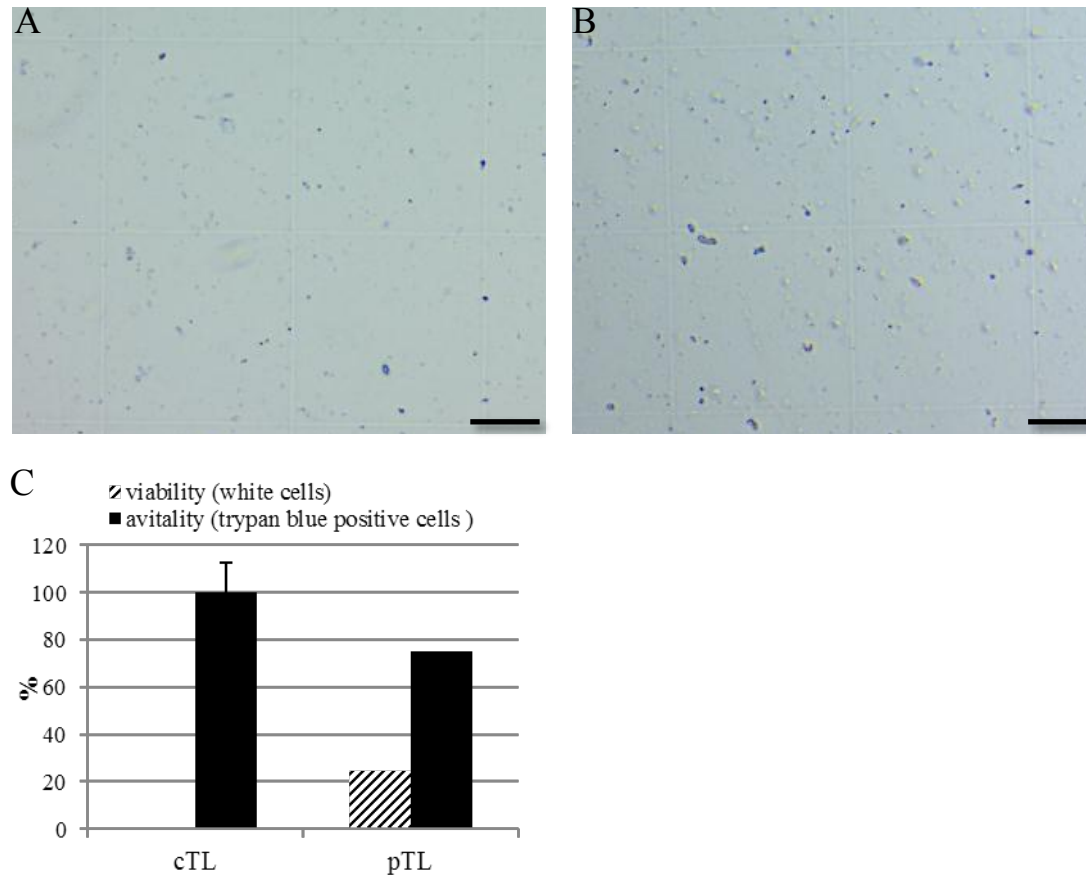
Herstellungsphasen: Präklinische Phase

- ❑ Durchführung von Versuchen an isolierten Zellen, Zellkulturen, Organen sowie Tierversuche
- ❑ Tierversuche werden durchgeführt, um das biologische Geschehen in einem Lebewesen nachzuvollziehen (z. B. Bioverfügbarkeit), daher kann nicht gänzlich darauf verzichtet werden (gesetzliche Vorgaben)
- ❑ Der neue Arzneistoff wird dem Tier verabreicht:
 - ❑ 1) Wie toxisch ist die Substanz
 - ❑ 2) Tritt der erwartete und erwünschte Effekt auf?
 - ❑ Verläuft die Reaktion positiv gemäß den Erwartungen folgt eine detaillierte Untersuchung.
- ❑ Detaillierte Untersuchung: Testung auf Verträglichkeit und eventuelle Nebenwirkungen, Risiko auf Erbgutschädigung, Missbildungsauslösung und Krebserzeugung.
- ❑ Von 10.000 Substanzen bleiben ca. 10 übrig, die für geeignet zur Weiterentwicklung befunden werden
- ❑ + 3 klinische Phasen
- ❑ **Bis zur Zulassung sind in der Regel ca. 11- 12 Jahre vergangen!**

Development of a GMP-compliant production process for autologous, tumor-lysate pulsed dendritic cells (ATMP)

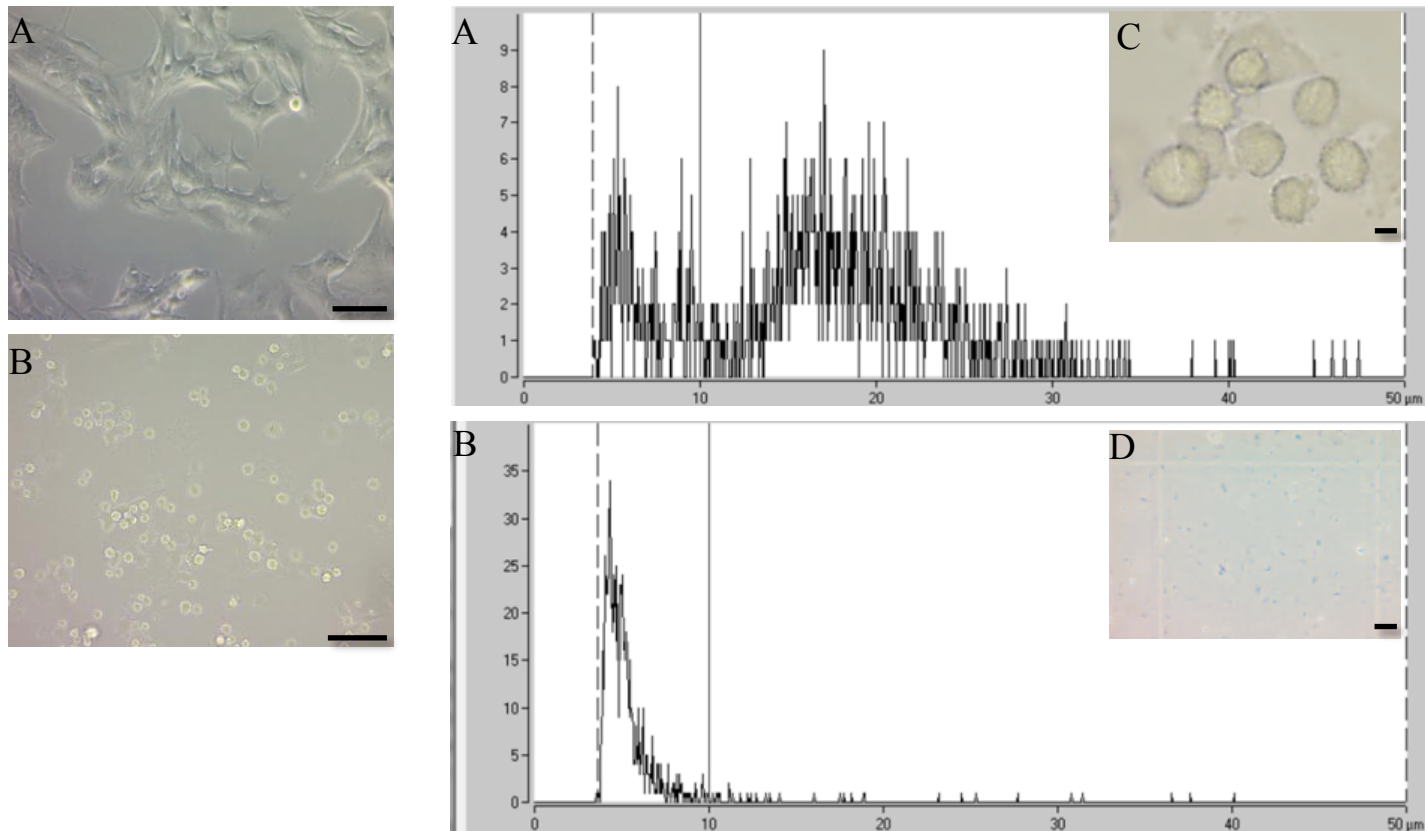


Validation of a non-vital tumor lysate (cTL) Trypan blue staining



Trypan blue staining is a tool to differentiate viable from non-viable particles within TL.

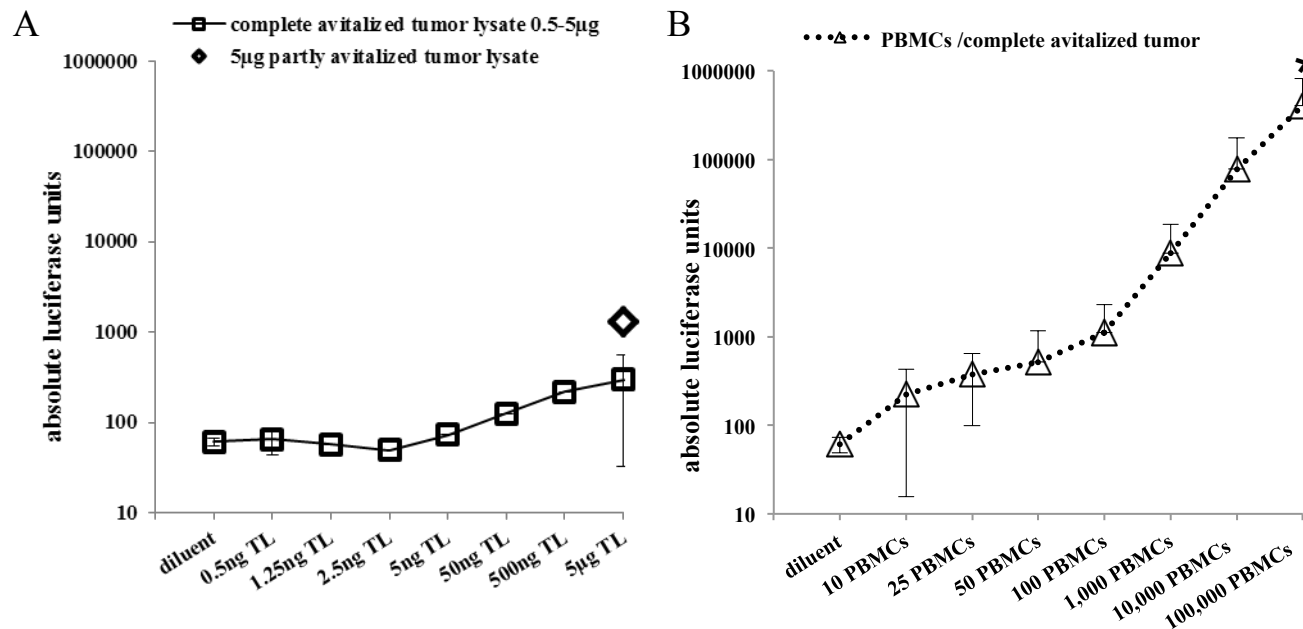
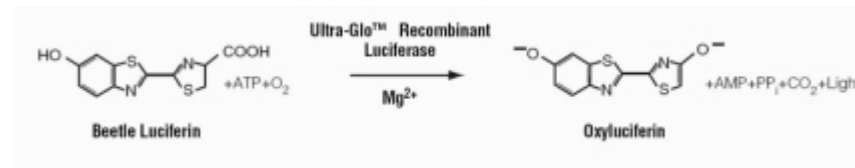
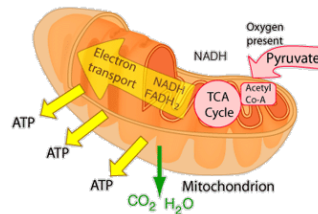
Validation of a non-vital tumor lysate (cTL) CASY TTC cell counter



ITC (median diameter 18-20 µm; 87.5% of cells > 10µm) were significantly larger than particles detected in cTL (78.7% of particles < 10µm).

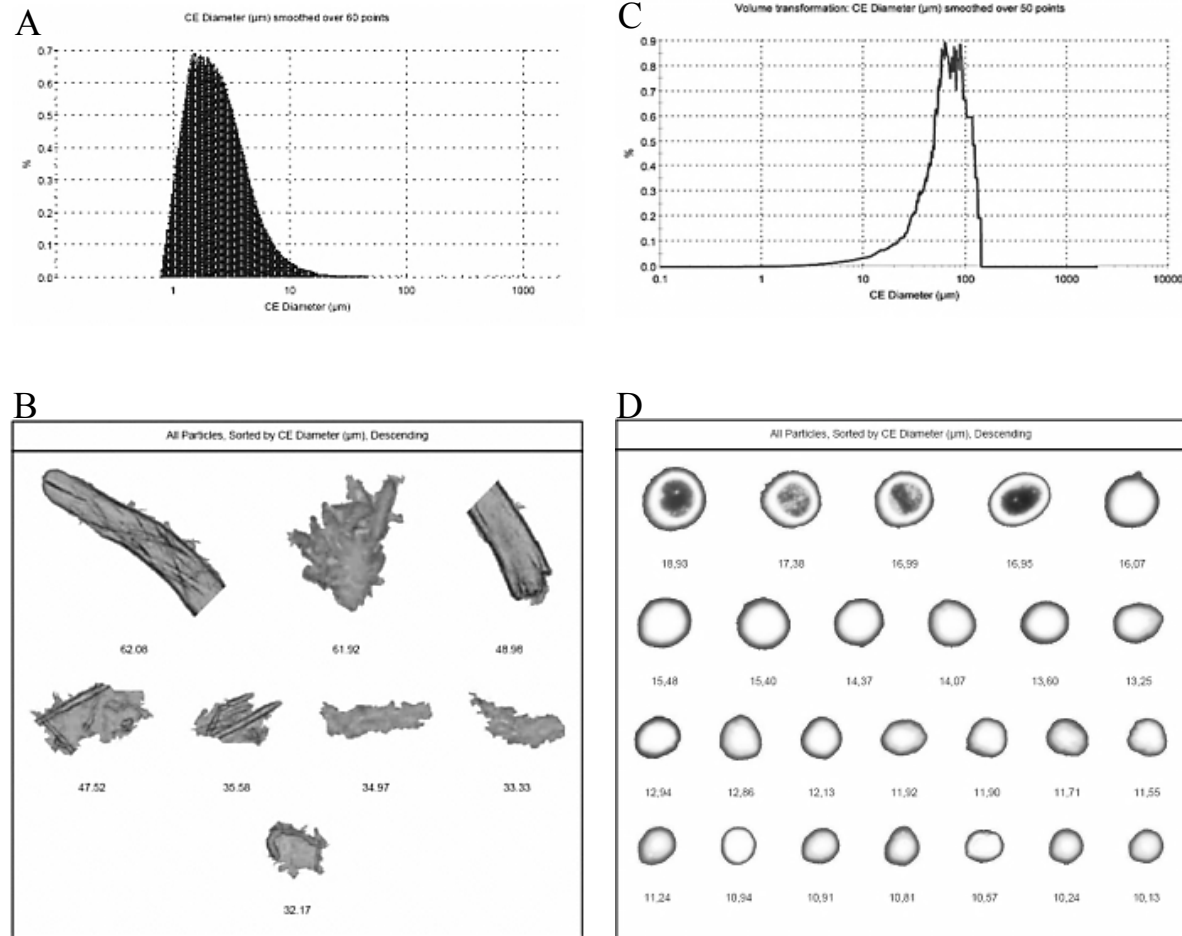
Short coming: no interpretation of larger particles (>10 µm)

Validation of a non-vital tumor lysate: ATP-Assay



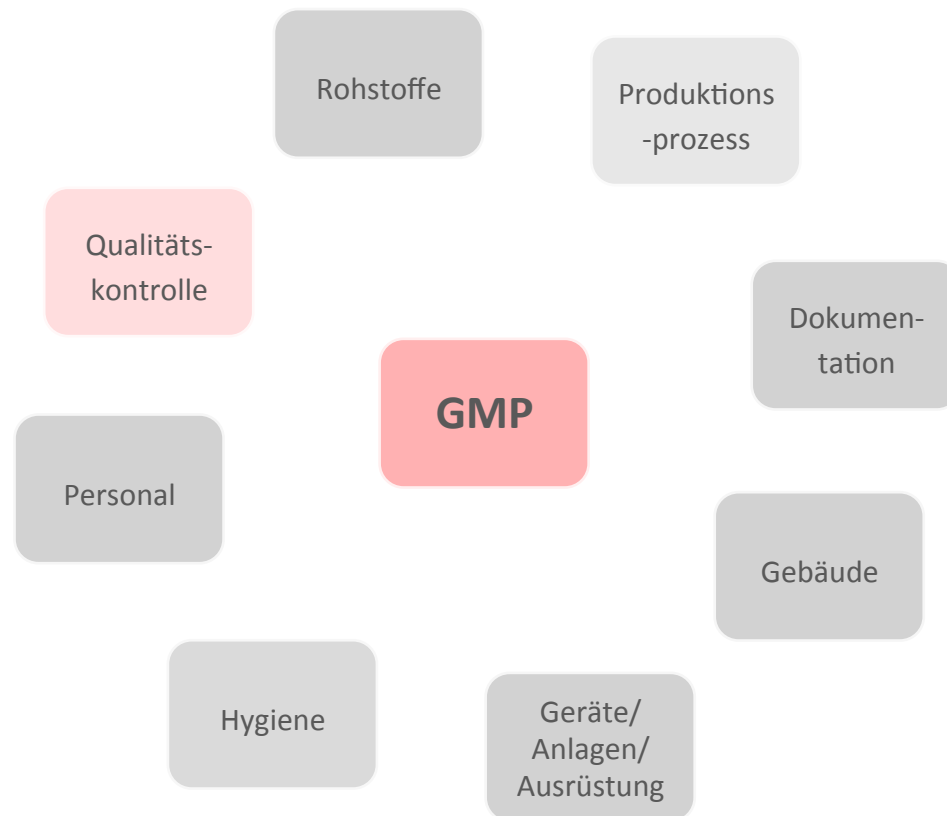
ATP-release assay reliably detects the absence of viable, metabolically active cells, but requires large amounts of tissue

Validation of a non-vital tumor lysate: ATP-Assay



SIA is an effective tool to confirm complete destruction of cells within cTL based on size, shape and morphology with a very small amount of cTL

Verschiedene Aspekte von GMP



Daten zur Qualität

- Herstellungserlaubnis = Definiertes, (validiertes), GMP-konformes Herstellungsverfahren
- Endprodukt-Spezifikation:
 - Begründete Spezifikationen für
 - Wirkstoff, Verunreinigungen, Reinheit, Zellzahl/Vitalität
 - Zellsubstrat, Medien, Reagenzien, Proteine, DNA, Spezifische Gene/ Onkogene
 - Mikrobielle Sicherheit
 - Virussicherheit/TSE
 - Stabilität
 - Spezifische Aktivität (Potency)
 - Auf Basis der Charakterisierungsstudien definiert
- Begrenzt durch Produktmenge & Zeitspanne bis zur Freigabe

